

**(PCT Rule 61.2)**

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
in its capacity as elected Office



(19) 世界知的所有権機関  
国際事務局



(43) 国際公開日  
2000年12月28日 (28.12.2000)

PCT

(10) 国際公開番号  
WO 00/78339 A1

- (51) 国際特許分類: A61K 38/17, A61P 15/06, 43/00 崎市大字恒久940 パンベールハウスA-401号 Miyazaki (JP).
- (21) 国際出願番号: PCT/JP00/04167
- (22) 国際出願日: 2000年6月23日 (23.06.2000)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:  
特願平11/177548 1999年6月23日 (23.06.1999) JP  
特願2000/79171 2000年3月21日 (21.03.2000) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 塩野義製薬株式会社 (SHIONOGI & CO., LTD.) [JP/JP]; 〒541-0045 大阪府大阪市中央区道修町三丁目1番8号 Osaka (JP).
- (74) 代理人: 山本秀策 (YAMAMOTO, Shusaku); 〒540-6015 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号 クリスタルタワー15階 Osaka (JP).
- (81) 指定国 (国内): CA, JP, US.
- (84) 指定国 (広域): ヨーロッパ特許 (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).
- 添付公開書類:  
— 国際調査報告書  
— 請求の範囲の補正の期限前の公開であり、補正受領の際には再公開される。  
— 不利にならない開示又は新規性喪失の例外に関する陳述。
- (72) 発明者; および  
(75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 柳田俊彦 (YANAGITA, Toshihiko) [JP/JP]; 〒880-0916 宮崎県宮
- 2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: UTERINE CONTRACTION INHIBITORS

(54) 発明の名称: 子宮筋収縮抑制薬

(57) Abstract: Compositions containing adrenomedulin for inhibiting automatic uterine contraction or contraction caused by bradykinin. These compositions are usable for selectively inhibiting automatic uterine contraction or contraction caused by bradykinin, preventing premature birth, preventing abortion, ceasing delivery before cesarean section, or treating difficult menstruation.

(57) 要約:

アドレノメデュリンを含有する、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するための組成物。本発明の組成物は、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を選択的に抑制するため、早産を予防するため、流産を予防するため、帝王切開前に分娩を停止するため、または月経困難症を治療するために用いられ得る。

WO 00/78339 A1



## 明 細 書

## 子宮筋収縮抑制薬

## 5 技術分野

本発明は、アドレノメデュリンを含有する、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するための組成物に、より詳細には、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を選択的に抑制するための組成物に関する。

## 10 背景技術

産科の分野で最も重要な問題の一つは早産の管理である。妊娠 22 週以後から 37 週未満の分娩を早産といい、全分娩の 5～10% を占める。早産により分娩された新生児を早産児といい、低出生体重児であることが多い。近年、新生児管理は著しく進歩したとはいえ、早産児は正常分娩された新生児と比較して罹患率および死亡率が高いので、可能な限り妊娠状態を維持して早産を予防することが望ましい。

現在広範に用いられている早産予防薬としては、 $\beta_2$ -アドレナリン作用性の交感神経作用薬、硫酸マグネシウム、およびインドメサシン（プロスタグランジン合成阻害剤）などが公知である。

20 代表的な  $\beta_2$ -アドレナリン作用性作用薬であるリトドリンは、母体に、頻脈、レニン分泌の増大、高血糖症（および新生児の低血糖症）を含む種々の心血管性および代謝性の副作用を引き起こす。テルブタリンおよびアルブテロールを含む他の  $\beta_2$ -作用性作用薬は、リトドリンと同様の副作用を有する。

25 4～8 mg/dL の治療範囲を超える血漿濃度の硫酸マグネシウムは、心臓伝導および神経筋伝達の阻害、呼吸低下、ならびに心停止を引き起こし、従って腎機能が損なわれた場合には、この薬剤は好適ではなくなる。

インドメサシンは、胎児の肺動脈高血圧症、動脈管開存異常などの胎児副作用があるので、大量使用および長期使用は禁忌である。

このように、現在公知の早産予防薬は種々の欠点を有する。それゆえ、これらの欠点を有さない、新規な早産予防薬が望まれている。

- 5       分娩の開始、すなわち陣痛発来の際序は、いまだ完全には解明されていないが、子宮収縮作用をもつオキシトシン、プロスタグランジンなどの関与が示唆されている。ブラジキニンもオキシトシンおよびプロスタグランジンと同様に、子宮収縮作用を有するが、その生理的、あるいは病態生理的な意義については、未だ不明である。しかし、ブラジキニンは本来、炎症性のメディエーターであり、妊娠
- 10       子宮における異常な増加が早産、流産を引き起こす可能性が示唆されている（文献1；文献リストは本書末尾に記載する）。そのため、子宮筋の自動収縮を抑制し得る薬剤、またはブラジキニンの子宮筋収縮作用を抑制し得る薬剤、特に子宮筋の自動収縮を選択的に抑制し得る薬剤、またはブラジキニンの子宮筋収縮作用を選択的に抑制し得る薬剤が見出されれば、早産を予防するためだけでなく、流
- 15       産を予防するため、帝王切開前に分娩を停止するために有用であると考えられる。

さらに、この薬剤は、月経困難症を治療するために有用であると考えられる。なぜなら、月経困難症は、排卵周期中の月経に関連する周期的痛みによって特徴付けられ、この痛みは、子宮の収縮および虚血に由来するものと考えられるからである。

- 20       アドレノメデュリン（AM）は、カルシトニン遺伝子関連ペプチド（CGRP）ファミリーの一員であり、当初、ヒト褐色細胞腫から降圧作用を有するペプチドとして単離された（文献2）。AMは、種々の組織において様々な役割を果たすことが知られている（文献3）。これは、AMの生体に対する作用機序が一樣ではないことを示唆する。

- 25       メス生殖系（例えば、下垂体の後葉（文献3）および子宮（文献4）におけるAMタンパク質あるいはAM mRNAのレベルは、副腎髄質におけるレベルと

同程度に高い。また、母体血液中の循環AMのレベル（文献5）ならびに胎児胎盤組織（文献6）および子宮（文献7）におけるAMおよびAM mRNAの量は、両方とも、正常な妊娠の間に上昇した。妊娠合併症の1つである妊娠中毒症では、母体の血漿AMレベルは変化しなかった（文献5）かまたは低下（文献8）したが、羊水および臍静脈中のAM含量は、正常妊娠（文献9）と比較して高かった。しかし、これらの胎児組織および母体組織におけるAMの生理学的役割およびAMの機能の詳細は、依然として不明である。

AMの子宮収縮に与える影響については、AMが、5  $\mu$ M以上の高濃度でのみガラニン（CGRPニューロンに含まれる神経ペプチド）による子宮の緊張性収縮を抑制すること、さらにその作用がCGRP [8-37] により消失することが、唯一報告されている（文献7）。しかし、ガラニンによる子宮収縮の意義が全く不明であること、また、AMの作用が、ナノモル（nM）オーダー以下の濃度（AMが作用しうる濃度として多くの論文で報告されている）ではみられず、マイクロモル（ $\mu$ M）オーダー以上という高濃度でしか確認できないことから、生理的なAMの作用を反映しているとは考えにくい。

子宮の運動性（収縮／弛緩）は、交感神経、副交感神経による神経性の調節だけでなく、CGRP（文献10）や、一酸化窒素（NO）、オキシトシン、プロスタグランジンF<sub>2 $\alpha$</sub> （PGF<sub>2 $\alpha$</sub> ；血圧上昇、血管収縮、腸管運動促進、子宮収縮、黄体退行促進、および気管支収縮作用を有し、分娩誘発剤として使用される代表的なプロスタグランジン）などの様々な物質により協調的に調節されている。また、前述のブラジキニンのように、異常収縮を引き起こし、早産の原因となりうるものも子宮の運動性に影響を与える。しかし、子宮の自動収縮、ならびにオキシトシン、PGF<sub>2 $\alpha$</sub> などの調節因子による収縮、あるいは、ブラジキニンによる収縮にAMがどのような影響を与えるかは、全く知られていない。

本発明は、上記問題点の解決を意図するものであり、子宮筋の自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制する、好ましくは選択的に抑制する新規な薬剤を

提供することを目的とする。

#### 発明の開示

本発明者は、もともと血圧降下作用を有するペプチドとして同定されたアドレ  
5 ノメデュリンが、子宮筋の自動収縮およびブラジキニンによる収縮を抑制する作用を有すること、およびこの抑制作用が選択的であることを見出し、これに基づいて本発明を完成させた。

本発明の子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するための組成物  
10 は、アドレノメデュリンを含有する。本発明の組成物は、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を選択的に抑制するため、早産を予防するため、流産を予防するため、帝王切開前に分娩を停止するため、または月経困難症を治療するために用いられ得る。

1つの実施態様において、上記アドレノメデュリンは、(a)配列表の配列番号1の13位のS e rから52位のT y rまでのアミノ酸配列を有するペプチド  
15 ; (b)アミノ酸配列(a)において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチド; (c)配列表の配列番号1の1位のT y rから52位のT y rまでのアミノ酸配列を有するペプチド; (d)アミノ酸配列(c)において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋  
20 収縮抑制作用を有するペプチド; (e)配列表の配列番号1の-73位のA l aから52位のT y rまでのアミノ酸配列を有するペプチド; (f)アミノ酸配列(e)において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチド; (g)配列表の配列番号1の-94位のM e tから91位のL e uまでのアミノ酸配列を有する  
25 ペプチド; または、(h)アミノ酸配列(g)において1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制



作用を有するペプチドを含む。

他の実施態様では、上記アドレノメデュリンのC末端は、アミド化されるか、またはGlyが付加され得る。

5  他の実施態様では、上記アドレノメデュリンにおいて、配列表の配列番号2の16位のCysと21位のCysとが架橋され得る。上記架橋は、ジスルフィド結合または $-CH_2-CH_2-$ 結合であり得る。

本発明の早産または流産の予防方法は、アドレノメデュリンを含有する組成物を用いる。

10  本発明は、早産または流産の予防薬を製造するためのアドレノメデュリンの使用を提供する。

#### 図面の簡単な説明

図1 (A) は、実施例において子宮切片を採取した子宮部位を示す模式図である。図1 (B) は、調製した子宮切片の形状を示す模式図である。

15  図2 (a) は図1 (A) のaの子宮切片に蒸留水を；図2 (b) は図1 (A) のbの子宮切片に蒸留水を；図2 (c) は図1 (A) のcの子宮切片に100 nMアドレノメデュリンを；そして図2 (d) は図1 (A) のdの子宮切片に100 nMアドレノメデュリンを添加した場合に子宮筋の収縮を測定した結果示すグラフである。

20  図3 (a) は図1 (A) のbの子宮切片に1～100 nMアドレノメデュリンを；図3 (b) は図1 (A) のcの子宮切片に1～100 nMアドレノメデュリンを；そして図3 (c) は図1 (A) のdの子宮切片に蒸留水を添加した場合に子宮筋の収縮を測定した結果を示すグラフである。

25  図4 (a) は図1 (A) のaの子宮切片にブラジキニンを添加し、次いで100 nMアドレノメデュリンを添加した場合の子宮筋の収縮を、図4 (b) は図1 (A) のbの子宮切片にブラジキニンを添加し、次いで蒸留水を添加した場合に、

子宮筋の収縮を測定した結果を示すグラフである。

図5は、ヒト褐色細胞腫由来のアドレノメデュリンのアミノ酸配列を示す図である。RE1からRE6は、このアミノ酸配列をアルギニルエンドペプチダーゼで切断した場合に生成される断片を示す。

5 図6は、AMによる子宮の自動収縮の濃度依存的抑制；AM〔22-52〕またはCGRP〔8-37〕による防止を示す図である。(a)～(e)は、類似の結果を有する5つの別々の実験からの代表的な記録である。 $p < 0.05$ 、薬物なしでの応答と比較（一因子分散分析）； $p < 0.05$ 、AM単独と比較（二因子分散分析）。

10 図7は、AMによっては引き起こされるが、AM〔22-52〕またはCGRP〔8-37〕によるオキシトシンまたはPGF<sub>2α</sub>の防止によっては引き起こされない、ブラジキニンによる子宮収縮の抑制を示す図である。(a)から(e)は、類似の結果を有する5回の別々の実験からの代表的な記録を示す。

15 発明を実施するための最良の形態

本発明の実施においては、特に指示されない限り、当該分野で既知であるタンパク質の分離および分析法、組換えDNA技術、およびアッセイ方法が採用される。

20 I. 定義

以下に、本発明を説明する上で用いられる用語を説明する。

アドレノメデュリンは、上述のように、当初、血圧降下作用を有するペプチドとしてヒト褐色細胞腫から単離されたペプチドである。本発明において、用語「アドレノメデュリン」は、この特定のペプチドに限定されず、このペプチドに対してアミノ酸配列における実質的な相同性を有するペプチドもまた含んでいう。

25 相同なペプチドの例として、種変異体、および対立遺伝子変異体がある。ヒト由

来のアドレノメデュリンは、配列表の配列番号2の1位のT y rから52位のT y rまでのアミノ酸配列を含む。(配列表の配列番号2の-94位のM e tから91位のL e uまでのアミノ酸配列からなるペプチドは、プレプロアドレノメデュリンと考えられる。シグナルペプチドがプロセシングされた配列表の配列番号2の-73位のA l aから91位のL e uまでのアミノ酸配列からなるペプチドは、プロアドレノメデュリンと考えられる。配列表の配列番号2の13位のS e rから52位のT y rまでのアミノ酸配列からなるペプチドは、血圧降下作用が確認されたアドレノメデュリンフラグメントである。これらのいずれの形態も、本発明において使用され得る。) ヒト由来のアドレノメデュリンは、配列表の配列番号1の447位のTから602位のCまでのポリヌクレオチド配列によりコードされ得る。ブタ由来のアドレノメデュリンの場合、配列表の配列番号4の1位のT y rから52位のT y rまでのアミノ酸配列を含む。ブタ由来のアドレノメデュリンは、配列表の配列番号3の430位のTから585位のCまでのポリヌクレオチド配列によりコードされ得る。ラット由来のアドレノメデュリンは、配列表の配列番号6の1位のT y rから50位のT y rまでのアミノ酸配列を含む。ラット由来のアドレノメデュリンは、配列表の配列番号5の433位のTから582位のTまでのポリヌクレオチド配列によりコードされ得る。

ヒトの疾患または治療の目的において、ヒト由来のペプチドが好ましいことは明らかである。しかし、他の哺乳動物由来の相同なペプチドもまた目的に応じて使用可能である。さらに、他の哺乳動物由来のペプチドとの比較は、ヒト由来のペプチドの所望の活性が保持された改変体を得るうえで重要である。

本発明に用いられるアドレノメデュリンは、上記の配列によって必ずしも限定されることはなく、これらの配列に対して、1もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列を有し、かつ所望の活性が保持された相同なペプチドも対象として含まれる。

アミノ酸の保存的置換は、相同なペプチドを得るための好ましい手段のひとつ

である。保存的置換は、代表的には以下のグループ内での置換を包含する：グリシン、アラニン；バリン、イソロイシン、ロイシン；アスパラギン酸、グルタミン酸；アスパラギン、グルタミン；セリン、トレオニン；リジン、アルギニン；およびフェニルアラニン、チロシン。

5        2つのアミノ酸配列の間の相同性は、必要であればギャップを導入して、残基の適合を最適化することにより決定される。ヒトのアドレノメデュリンに実質的なアミノ酸配列相同性を有するペプチドは、ヒトのアドレノメデュリンのアミノ酸配列と、代表的には少なくとも約60%、好ましくは少なくとも約70%、そしてより好ましくは少なくとも約80%の相同性を有し、そして特に好ましい実施態様では、少なくとも約90%以上の相同性を有する。相同性決定のためのソフトウェアは、容易に入手可能である。

10        本発明においては、定義上、下記の実施例1と実質的に同一の条件（AMの添加濃度は100 nMとする）で測定したとき、子宮筋の自動収縮度が実施例1のコントロール区に示された値の約90%以下、好ましくは約80%以下であるとき、またはブラジキニンによる収縮度が実施例2のコントロール区に示された値の約90%以下、好ましくは約80%以下であるとき、「子宮筋収縮抑制作用を有する」という。

15        本発明においては、定義上、下記の実施例1と実質的に同一の条件（AMの添加濃度は100 nMとする）で測定したとき、子宮筋の自動収縮度が実施例1のコントロール区に示された値の約90%より高い、好ましくは約95%以上であるとき；ブラジキニンによる収縮度が実施例2のコントロール区に示された値の約90%より高い、好ましくは約95%以上であるとき；またはオキシトシンもしくはプロスタグランジンF<sub>2α</sub>による収縮度が実施例4においてAM添加前に示された値の約90%より高い、好ましくは約95%以上であるとき収縮を「抑制しない」という。

20        本発明においては、子宮筋の自動収縮またはブラジキニンによる収縮は抑制す

るが、オキシトシンおよびプロスタグランジン $F_2$ による収縮は抑制しない場合に、「選択的な子宮筋収縮抑制作用を有する」という。

本発明に用いられるペプチドのC末端は、アミド化されていても、されていなくてもよい。「C末端のアミド化」とは、ペプチドの修飾反応の1つをいい、ペ  
5 ペプチドのC末端アミノ酸のCOOH基が、CONH<sub>2</sub>の形態になることをいう。

生体内で作動する多くの生理活性ペプチドは、はじめ分子量のより大きな前駆体タンパク質として生合成され、これが細胞内移行の過程で、C末端アミド化のような修飾反応を受けて成熟する。アミド化は、C末端アミド化酵素が、前駆体タンパク質に作用することによって、行われる。前駆体タンパク質においては、ア  
10 ミド化される残基のC末端側には常にGly残基が存在し、さらにそのC末端側に、例えばLys-ArgあるいはArg-Argなどの塩基性アミノ酸配列対が続いていることが多い（文献11）。

#### II. 子宮筋収縮抑制作用を有するアドレノメデュリン

15 本発明においては、アドレノメデュリンは、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するため、好ましくは選択的に抑制するための組成物の有効成分として利用される。また、アドレノメデュリンは、早産または流産の予防薬を製造するための有効成分として利用される。アドレノメデュリンは、天然の供給源から単離されたもの、組換えDNA技術を使用して産生したもの、または化  
20 学合成したものであり得る。

アドレノメデュリンを天然の供給源から単離する場合、例えば、以下のようにして精製し得る。アドレノメデュリンは、例えばまず、ヒト褐色細胞腫を破壊して得られる粗抽出物を、各種クロマトグラフィーにかけることによって精製され得る。その際、血小板cAMPの活性の上昇をモニターすることによって、目的  
25 のアドレノメデュリンを含むフラクションを得ることができる。アドレノメデュリンの単離および精製方法については、特開平7-196693号公報に記載さ

れる。

アドレノメデュリンを組換えDNA技術を使用して産生する場合、目的のペプチドをコードするDNA配列が、種々の組換え系を用いて発現される。発現ベクターの構築および適切なDNA配列を有する形質転換体の作製は、当該技術分野  
5 で公知の方法によって実施される。発現は、原核生物系または真核生物系で実施され得る。

原核生物宿主としては、E. coli、バチルス属菌、およびその他のバクテリアが用いられる。そのような原核生物には、複製部位と宿主に適合する制御配列とを含むプラスミドベクターが用いられる。例えば、E. coliは、典型的  
10 には、E. coli由来のプラスミドである、pBR322の誘導体を用いて形質転換される。ここでの制御配列とは、転写開始のためのプロモーター、必要に応じてオペレーター、およびリボソーム結合部位配列を含むと定義される。この制御配列には、 $\beta$ -ラクタマーゼおよびラクトースプロモーター系（文献12）、トリプトファンプロモーター系（文献13）、および $\lambda$ 由来のP<sub>L</sub>プロモーター  
15 およびN遺伝子リボソーム結合部位（文献14）のような一般的に用いられているものが包含される。

真核生物宿主としては、例えば酵母および哺乳動物細胞が用いられ得る。このような真核生物には、複製部位と宿主に適合する制御配列とを含むプラスミドベクターが用いられる。例えば、酵母は、pYEUra3（Clontech）を用いて形質転換される。その他に、真核生物宿主で有用なプロモーターには、例えば糖分解酵素を合成するためのプロモーター（例えば、3-ホスホグリセレートキナーゼのためのプロモーター（文献15）；エノラーゼ遺伝子由来のプロモーター；YEpl3から得られたLeu2遺伝子由来のプロモーター；メタロチオネイン由来のプロモーター；SV40由来の初期または後期プロモーター、ポリオーマウイルス、アデノウイルスII、ウシ乳頭腫ウイルス、およびトリ肉腫  
20 ウイルス由来のプロモーターのような他のウイルスプロモーターが包含される。

宿主細胞と適切なプロモーターとの組合せは当業者に公知であり、必要に応じて適切に選択され得る。

発現ベクターを適当な宿主細胞に導入することによって形質転換体を得られる。この形質転換体を適当な条件で培養することにより、所望のアドレノメデュリンを得ることができる。

アドレノメデュリンの化学合成は、当該技術分野で公知の方法で行われ得る。例えば、ペプチド合成機による固相法で合成され得る。C末端がアミド化されているペプチドは、ベンズヒドリルアミンレジンを用いて、ペプチド合成機にてC末端アミノ酸から順次N末端アミノ酸まで標準的なDCC/HOBtで縮合させ、得られたペプチドレジンから標準的な開裂法（トリフルオロメタンスルホン酸法）で、目的とするペプチドを切り出して、作製し得る。

C末端がアミド化されたアドレノメデュリンを得るためには、宿主内で発現させて得られたペプチドのC末端のカルボキシル基を、化学的にアミド化するか、または目的とするアミノ酸配列のC末端にGlyが付加したペプチドを調製し、これに前述のC末端アミド化酵素を作用させてアミド化すればよい。

あるいは、アドレノメデュリンのC末端にGlyが付加したペプチドは、前述の通り、生体内のC末端アミド化酵素の作用によってC末端がアミド化され得る。

ジスルフィド結合は、例えば、空気酸化または適当な酸化剤でペプチドを酸化することにより形成させ得る。ジスルフィド結合の $-CH_2-CH_2-$ 結合への置換は、周知の方法（文献16）により行い得る。一般に、ジスルフィド結合を $-CH_2-CH_2-$ 結合に置換することにより、ジスルフィド結合の開裂がなくなり、タンパク質が安定化する。

以上のようにして得られたアドレノメデュリンが子宮筋収縮抑制作用を、好ましくは選択的な子宮筋収縮抑制作用を有することは、当該分野で公知の、子宮筋収縮作用についてのアッセイ方法を用いて行われ得る。アッセイ方法の例としては、エストロゲンで前処理した雌ラットの子宮を用いる方法、発情前期または発

情期の処女の雌ラットの子宮を用いる方法、妊娠中、分娩中、あるいは分娩後の雌ラットの子宮を用いる方法などが挙げられる。エストロゲンで前処理した雌ラットの子宮を用いる場合、例えば、以下の条件で子宮筋収縮抑制作用をアッセイし得る：エストロゲン（例えば、 $17\beta$ -エストラジオール）を投与した雌ラットから子宮を摘出し、これをいくつかに切断することにより子宮断片を得る。子宮断片の血管付着部を除去して、子宮切片を得る。得られた子宮切片を、リンゲル液などの緩衝液中に浸漬しながら、アイソメトリックトランスデューサーおよびアイソトニックトランスデューサーなどの測定装置を用いて、子宮筋の収縮を継続的に調べる。自動収縮をする子宮筋の律動が一定になったところで、またはブラジキニン、オキシトシン、もしくはプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ を添加した後に、溶液に被験ペプチドを添加し、子宮筋の収縮の変化を調べる。被験ペプチドの存在下および非存在下で子宮筋を収縮させて、収縮のレベルを比較することにより、ペプチドの子宮筋収縮抑制作用が判断される。このようにして子宮筋の自動収縮、またはブラジキニン、オキシトシン、もしくはプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ による子宮筋の収縮に対する被験ペプチドの作用を決定する。子宮筋の自動収縮またはブラジキニンによる子宮筋の収縮は抑制するが、オキシトシンもしくはプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ による子宮筋の収縮は抑制しない被験ペプチドは、選択的な子宮筋収縮抑制作用を有すると判断される。

### III. 子宮筋収縮抑制用組成物の調製

本発明の組成物は、有効量のアドレノメデュリンに加えて、当業者に公知の任意の賦形剤を含有し得る。賦形剤の例としては、乳糖、コーンスターチ、ステアリン酸マグネシウム、ミョウバンなどが挙げられる。

本発明の組成物は、当該分野で公知の方法に従って調製され得る。

本発明の組成物は、任意の形状であり得る。本発明の組成物は、錠剤、丸剤、カプセル剤、顆粒剤のような固体；または水溶液および懸濁液のような液体であ



り得る。本発明の組成物を錠剤として経口投与する場合、通常、乳糖、コーンスターチ、およびステアリン酸マグネシウムのような賦形剤が使用され得る。本発明の組成物をカプセル剤として経口投与する場合、通常、乳糖および乾燥コーンスターチのような賦形剤が使用され得る。水性懸濁液として経口投与するためには、アドレノメデュリンを乳濁液または懸濁液と組み合わせて使用し得る。水性懸濁液は、必要に応じて、甘味剤および香料を含有し得る。本発明の組成物を筋肉内、腹腔内、皮下、および静脈内注射する場合は、滅菌した溶液にアドレノメデュリンを溶解させて緩衝液を調製し、pHを適切な値に調節する。本発明の組成物を静脈内投与する場合は、組成物は等張であることが好ましい。

10 本発明の組成物は、早産または流産の予防薬として用いられ得る。

#### I V. 子宮筋収縮抑制用組成物の投与

本発明の組成物は、Remington's Pharmaceutical Sciences, Mack Publishing社、Easton、P  
Aに記載されているような従来のペプチドの処方物の形で投与され得る。例えば、  
15 本発明の組成物は、経口投与；静脈投与、筋肉注射、腹腔内注射、および皮下注射のような非経口投与により投与され得る。これらのペプチドを羊水中へ補充することも可能である。好ましくは、これらのペプチドは、注射によって投与され得る。

20 本発明の組成物を、ヒトに投与する場合、1日あたりの用量は、通常、患者の症状、重篤度、感受性に対する個体差、体重、年齢などを考慮して、当業者によって適切に決定され得る。本発明の組成物は、1日1回投与されてもよいし、1日数回に分けて投与されてもよい。

本発明の組成物を投与することにより、早産または流産が予防される。

25

(実施例)

以下、本発明の子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するため、好ましくは選択的に抑制するための薬としてのアドレノメデュリンの作用についてさらに具体的に説明する。本発明は以下の実施例によって限定されるものではない。本実施例で用いたアドレノメデュリンは、配列番号6の1位のTyrから50位のTyrまでのアミノ酸配列からなる、合成ペプチドである (Peptide Institute, Inc. より入手)。

(実施例1：雌ラット子宮の自動収縮に対するアドレノメデュリンの効果)

10 10～12週齢の雌ラットに、0.2mlの30%エタノール中1 $\mu$ gの17 $\beta$ -エストラジオールを皮下注射した。

翌日、このラットの頭部を強打することにより、屠殺した。次いでこのラットを断頭し、瀉血し、そして子宮を摘出した。摘出した子宮を、a～dの4つの部分に切断し (図1 (A))、次いで、各断片から血管の付着部側を切除することにより、子宮切片 (図1 (B)) を得た。

15 アドレノメデュリンのラット子宮に対する影響を、アイソトニックトランスデューサーTD-112S (日本光電社製) を1g張力で用いて子宮切片の収縮を測定することにより調べた。

まず、子宮切片を、30mlのグルコース添加改変クレブスーリンゲル重炭酸溶液 (Modified Krebs-Ringer bicarbonate (KRB) solution with glucose) (以下、単に「改変KRB溶液」という。) 中に浸したまま、アイソトニックトランスデューサーに取り付けた。改変KRB溶液の組成は、以下の通りである：122mM NaCl、26mM NaHCO<sub>3</sub>、5mM KCl、1mM MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、0.03mM EDTA-2Na、2.4mM CaCl<sub>2</sub>、および11mMグルコース；pH7.4)。

子宮筋収縮を継続的に測定した。子宮筋の自動的律動が一定になるのを確認し

た後、 $10^{-4}$ M アドレノメデュリン（実験サンプル）または蒸留水（コントロールサンプル）を、それぞれ、 $30\mu\text{l}$  ずつ、グルコース添加改変KRB溶液に添加し、アドレノメデュリンの濃度を $100\text{nM}$ とした。アドレノメデュリンまたは蒸留水の添加から30分後、 $4.5\text{M}$ のKClを $300\mu\text{l}$ 添加してKCl濃度を $45\text{mM}$ とした。

結果を、図2（a）～（d）に示す。ここで、図2の（a）～（d）は、それぞれ図1（A）のa～dの部分の子宮切片を用いて得られた結果に対応する。図2（a）および（b）はコントロールを、図2（c）および（d）は $100\text{nM}$ アドレノメデュリン添加の結果を示す。それぞれの図の左側の矢印は、蒸留水またはアドレノメデュリンを添加した時点を示す。それぞれの図の右側の矢印は、 $45\text{mM}$ のKClを添加した時点を示す。

図2（a）および（b）に示されるように、子宮筋の自動収縮は、蒸留水の添加の影響を受けなかった。一方、アドレノメデュリンを添加した場合、子宮筋の自動収縮が顕著に抑制された（図2（c）および（d））。また、 $45\text{mM}$ のKClの添加により、コントロール添加サンプルでもアドレノメデュリン添加サンプルでも強い収縮が起きたことから、アドレノメデュリンの添加が、子宮平滑筋細胞の脱分極によって生じる電位依存性Caチャネルの活性化による筋収縮には影響を与えないことがわかった。

なお、アイソメトリックトランスデューサーを用いて同じ実験を行ったところ、上記と同じ結果が得られた（データは示さず）。

#### （実施例2：雌ラット子宮に対するアドレノメデュリンの濃度依存的効果）

実施例1と同様に子宮切片を調製し、改変KRB溶液中でアイソトニックトランスデューサーにとり付け、子宮筋の収縮を継続的に測定した。子宮筋の自動的律動が一定になるのを確認した後、 $1\times 10^{-6}$ 、 $2\times 10^{-6}$ 、 $7\times 10^{-6}$ 、 $2\times 10^{-5}$ 、および $7\times 10^{-5}\text{M}$  アドレノメデュリン（実験サンプル）、または蒸留

水（コントロールサンプル）を、それぞれ、最初の添加を0分として、5分後、  
12分後、22分後、および32分後に改変KRB溶液に30 $\mu$ lずつ添加して、  
アドレノメデュリンの濃度を各々1、3、10、30、および100nMとした。  
次いで、アドレノメデュリンまたは蒸留水の最初の添加から45分後、4.5M  
5のKClを300 $\mu$ l添加してKClの濃度を45mMとした。

結果を、図3（a）～（c）に示す。ここで、図3の（a）～（c）は、それ  
ぞれ図1（A）のb～dの部分の子宮切片を用いて得られた結果に対応する。図  
3（a）および（b）は、1～100nMの各種濃度のアドレノメデュリン添加  
の結果を、そして図3（c）はコントロールを示す。それぞれの図の矢印は、ア  
10ドレノメデュリン、蒸留水、またはKClを添加した時点を示す。

図3（a）および（b）に示されるように、子宮筋の自動収縮は、アドレノメ  
デュリンの添加により、濃度依存的に抑制されることがわかった。

（実施例3：アドレノメデュリンによるブラジキニン誘導性子宮筋収縮の抑制

15）

実施例1と同様に子宮切片を調製し、改変KRB溶液中でアイソトニックトラ  
ンスデューサーにとり付け、10nMブラジキニン（Peptide Institute, Inc.）を改変KRB溶液に添加した時点から、子宮筋の収縮を  
継続的に測定した。ブラジキニンの添加の20分後、100nMアドレノメデュ  
20リンまたは蒸留水をさらに添加した。

結果を、図4（a）および（b）に示す。ここで、図4の（a）および（b）  
は、それぞれ図1（A）のaおよびcの部分の子宮切片を用いて得られた結果に  
対応する。図4（a）は、100nMアドレノメデュリン添加の結果を、そして  
図4（b）は蒸留水添加の結果を示す。それぞれの図の矢印は、ブラジキニン、  
25アドレノメデュリン、または蒸留水を添加した時点を示す。

図4（a）および（b）に示されるように、ブラジキニンにより誘導される子

宮筋の収縮は、アドレノメデュリンの添加により抑制された。

(実施例4：オキシトシンまたはプロスタグランジン $F_{2\alpha}$ による収縮に対するアドレノメデュリンの効果)

5 8～12週齢の雌ラットを用い、実施例1と同様にして子宮切片を調製した。

次いで、37℃にて、95%  $O_2$ /5%  $CO_2$ を通気した、30mlの改変KRB溶液を満たした組織チャンバー中に子宮切片を入れ、実施例1と同様に子宮切片の収縮を測定した。40分間の平衡化後、子宮切片を、1  $\mu$ M AM [22-52] または1  $\mu$ M CGRP [8-37] の非存在下または存在下で15  
10 分間プレインキュベーションし、次いでAMを組織チャンバー中の改変KRB溶液に添加することによりAMの濃度を1～100 nMに徐々に増加させながらAMに曝露した。

17  $\beta$ -エストラジオール注射を与えていないラットを用いる別の実験では、10 nM ブラジキニン、1 nM オキシトシン、または1  $\mu$ M  $PGF_{2\alpha}$ による子宮収縮に対する100 nM AMの効果、1  $\mu$ M AM [22-52] または1  $\mu$ M CGRP [8-37] の非存在下または存在下で試験した。  
15

いずれの測定においても、45mM KCl分極により子宮を最終的に収縮させ、子宮の応答を確認した。結果を図6 (a)～(f) および図7 (a)～(e) に示す。

20 エストロゲン的一种である17  $\beta$ -エストラジオールで処理したラットから単離した子宮切片は、律動様式で自動収縮した(図6 (a))；ここでは、AM溶液の代わりに蒸留水を添加している)。濃度を徐々に増すように(1～100 nM) AMをチャンバーに加えることにより、自動収縮は、濃度依存的に抑制された(  $IC_{50}=23$  nM) (図6 (b) および (c))。AMの抑制効果は、100  
25 nM AMにより子宮筋が完全に弛緩した場合でさえも、改変KRB溶液を洗浄交換しAMを除去することにより可逆的であった(図6 (c))。1  $\mu$ M AM

[22-52] または  $1\ \mu\text{M}$  CGRP [8-37] のいずれかを予め添加することは、それ自体では効果が無かったが、 $1\sim 100\ \text{nM}$  AMの添加による収縮抑制効果をほぼ完全に妨げた(図6(d) および6(e))。図6(f)は、図6(b)、(d)、および(e)の結果を比較したグラフである。

5 エストロゲン処理していないラットから子宮切片を調製した場合、これらは、種々の間隔および振幅で自動収縮した。図7(a)、(b)、および(c)に示すように、 $1\ \text{nM}$  オキシトシン、 $1\ \mu\text{M}$   $\text{PGF}_{2\alpha}$ 、または $10\ \text{nM}$  ブラジキニンは、いずれも、収縮を顕著に刺激した。 $100\ \text{nM}$ のAMは、オキシトシン(図7(a)) または $\text{PGF}_{2\alpha}$ (図7(b))により引き起こされる収縮  
10 に対して、ほとんど影響を与えなかった。他方、ブラジキニンによる収縮は、自動収縮を完全に抑制し得る濃度である $100\ \text{nM}$ のAMにより完全にブロックされた(図7(c))。ブラジキニンによる収縮に対するAMの抑制効果は、AM [22-52] またはCGRP [8-37] を予め添加することにより消失した(図7(d) および(e))。

#### (実施例の考察)

本発明者の知る限り、本実施例は、AMが、ラット子宮の自律的な自動収縮を濃度依存的に可逆的に抑制することを初めて実証した。さらに、AMは、ブラジキニンによる収縮は抑制したが、オキシトシン、 $\text{PGF}_{2\alpha}$ あるいは、高K刺激  
20 による収縮には影響しなかった。このことは、AMの作用が、子宮平滑筋を直接的に弛緩させるものでなく、自動的収縮、あるいは、ブラジキニンによる収縮の発生機構を選択的に抑制していることを示唆する。

本実施例において、AMによる子宮収縮抑制作用は、AMレセプターに対するアンタゴニストであるAM [22-52] と、CGRPレセプターに対するアン  
25 タゴニストであるCGRP [8-37] の両方でブロックされた。このことより、AMの作用は、AMレセプターとCGRPレセプターの両者を介して発現すると

考えられる。AMの作用がCGRP [8-37] によってブロックされることに  
関しては、本実施例以外にも、単離されたラット腸間膜血管系においてAMの血  
管拡張作用を、CGRP [8-37] がブロックする（文献17）、ラット脳室  
へのAM投与による心拍数および血圧の上昇を、AM [22-52] あるいはC  
5 GRP [8-37] がブロックする（文献18）などの報告がある。また、ラッ  
ト子宮を用いた結合実験において、AMは、<sup>125</sup>I-AM結合、<sup>125</sup>I-CGRP結  
合の両者を置換しうる、すなわち、AMは、AMの結合部位だけでなく、CGRP  
の結合部位にも結合しうるということが報告されている（文献7）。これらの知見は、  
本実施例で得られた結果を裏付けるものである。

10 子宮におけるAM蛋白、AM遺伝子の発現は、AMが発見された副腎髄質にお  
ける発現のレベルに匹敵して多い（文献7；文献3）。ラットおよびヒトの子宮  
で、AMが発現しているのは、子宮平滑筋組織より、むしろ子宮内膜組織である  
ことが報告されている。このことより、子宮内膜で産生されたAMが、パラクリ  
ン因子として子宮平滑筋に作用してものと推測される。

15 さらに、AMによる子宮収縮抑制作用の臨床的な意義について考察する。

妊娠子宮において、AMの発現量は非妊娠時の約1.8～約4.5倍、<sup>125</sup>I-  
AM結合量は約10倍、<sup>125</sup>I-CGRP結合量は約4倍といずれも増加するが（  
文献7；文献4；文献19）、CGRPの発現量は、検出限界以下に減少するこ  
とが報告されている（文献7）。これらの知見と、本実施例で得られた「AMが、  
20 AMレセプターおよびCGRPレセプターの両者を介して子宮収縮を抑制する」  
との結果をあわせると、妊娠子宮においては、発現が増加したAMが、子宮収縮  
を抑制することにより、妊娠の維持に重要な役割を果たしている可能性が示唆さ  
れる。

また、本実施例において、AMは、ブラジキニンによる収縮は抑制したが、オ  
25 キシトシンおよびPGF<sub>2α</sub>による収縮は抑制しなかった。一般に、オキシトシ  
ンおよびPGF<sub>2α</sub>による収縮は、分娩において重要な役割を担うとされている。

一方、ブラジキニンによる収縮については、その生理的、あるいは病態生理的な意義は、未だ不明であるものの、本来、ブラジキニンが炎症反応によって局所で産生される炎症性のメディエーターである（文献20）ことから、妊娠子宮における異常な増加が早産、流産を引き起こす可能性が示唆されている（文献1）。

したがって、AMは、オキシトシンおよびPGF<sub>2α</sub>による正常分娩時の収縮は阻害することなく、ブラジキニンによる異常収縮のみを選択的に抑制することによって、流早産を防止し、妊娠を維持するように働いている可能性が示唆される。

上記の結果をまとめると、非妊娠ラットの単離した子宮切片において、アドレノメデュリン（AM）は、自動定期収縮を濃度依存的に抑制した（IC<sub>50</sub>=23 nM）。AMの抑制効果は、CGRPレセプターについての推定アンタゴニストであるカルシトニン遺伝子関連ペプチド[8-37]（CGRP[8-37]）によっても、AMレセプターの推定アンタゴニストであるAM[22-52]のいずれによっても、完全に防止された。AMはまた、ブラジキニンによる子宮収縮を減衰させた。ブラジキニンによる子宮収縮は、CGRP[8-37]またはAM[22-52]によりブロックされる。一方、AMは、オキシトシンまたはプロスタグランジンF<sub>2α</sub>による収縮応答には抑制効果がない。これらの結果は、AMが子宮筋の自動収縮およびブラジキニンによる子宮筋の収縮を選択的に抑制することを示す。

## 文献

1. Schreyら, Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids (1992) 45:137-142
2. Kitamuraら, Biochem. Biophys. Res. Commun. (1993) 192:553-560
3. Cameronら, Endocrinology (1998) 139:2253-2264
4. Makinoら, Eur. J. Pharmacol. (1999) 371:159-167
5. Minegishiら, Mol. Hum. Reprod. (1999) 5:767-770



6. Dilorioら, Eur. J. Endocrinol. (1999) 140:201-206
7. Uptonら, Endocrinology (1997) 138:2508-2514
8. Hataら, Lancet (1997) 350:1600
9. Marinoniら, Obstet. Gynecol. (1999) 93:964-967
- 5 10. Anouarら, Arch. Pharmacol. (1998) 357:446-453
11. 水野, 生化学第61巻, 第12号, 1435~1461頁(1989)
12. Changら, Nature (1977) 198, 1056
13. Goeddelら, Nucleic Acids Res. (1980) 8:4057
14. Shimatake, Nature (1981) 292:128
- 10 15. Hitzemanら, J. Biol. Chem. (1980) 255:2073
16. O. Kellerら, Helv. Chim. Acta (1974) 57:1253
17. Nukiら, Biochem. Biophys. Res. Commun. (1993) 196:245-251
18. Saitaら, Am. J. Physiol. (1998) 274:R979-R984
19. Dongら, Am. J. Obstet. Gynecol. (1998) 179:497-506
- 15 20. DeLaら, Am. J. Physiol. (1991) 260:G213-219

#### 産業上の利用可能性

本発明により、アドレノメデュリンを含有する、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するため、好ましくは選択的に抑制するための組成物が

20 提供される。この組成物は、早産および流産を予防するため、帝王切開時に分娩を停止するため、ならびに月経困難症を治療するために有用である。

## 請求の範囲

1. アドレノメデュリンを含有する、子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を抑制するための組成物。

5

2. 子宮筋自動収縮またはブラジキニンによる収縮を選択的に抑制するために用いられる、請求項 1 に記載の組成物。

3. 早産を予防するために用いられる、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

10

4. 流産を予防するために用いられる、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

5. 帝王切開前に分娩を停止するために用いられる、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

15

6. 月経困難症を治療するために用いられる、請求項 1 または 2 に記載の組成物。

7. 前記アドレノメデュリンが、

(a) 配列表の配列番号 2 の 1 3 位の S e r から 5 2 位の T y r までのアミノ酸配列を有するペプチド、または、

20

(b) アミノ酸配列 (a) において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチドである、

請求項 1 または 2 に記載の組成物。

25

8. 前記アドレノメデュリンが、

(c) 配列の配列番号 2 の 1 位の T y r から 5 2 位の T y r までのアミノ酸配列を有するペプチド、または、

(d) アミノ酸配列 (c) において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチドである、

請求項 7 に記載の組成物。

9. 前記アドレノメデュリンが、

(e) 配列表の配列番号 2 の - 7 3 位の A l a から 5 2 位の T y r までのアミノ酸配列を有するペプチド、または、

(f) アミノ酸配列 (e) において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチドである、

請求項 8 に記載の組成物。

10. 前記アドレノメデュリンが、

(g) 配列表の配列番号 2 の - 9 4 位の M e t から 9 1 位の L e u までのアミノ酸配列を有するペプチド、または、

(h) アミノ酸配列 (g) において 1 もしくは数個のアミノ酸が欠失、置換もしくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつ子宮筋収縮抑制作用を有するペプチドである、

請求項 9 に記載の組成物。

11. 前記アドレノメデュリンの C 末端がアミド化されている、請求項 1 または

2 に記載の組成物。

12. 前記アドレノメデュリンのC末端にG l yが付加されている、請求項1または2に記載の組成物。

5 13. 前記アドレノメデュリンにおいて、配列表の配列番号2の16位のC y sと21位のC y sとが、架橋されている、請求項1または2に記載の組成物。

14. 前記架橋が、ジスルフィド結合である、請求項13に記載の組成物。

10 15. 前記架橋が、 $-CH_2-CH_2-$ 結合である、請求項13に記載の組成物。

16. アドレノメデュリンを含有する組成物を用いた早産または流産の予防方法。

17. 早産または流産の予防薬を製造するためのアドレノメデュリンの使用。

図 1

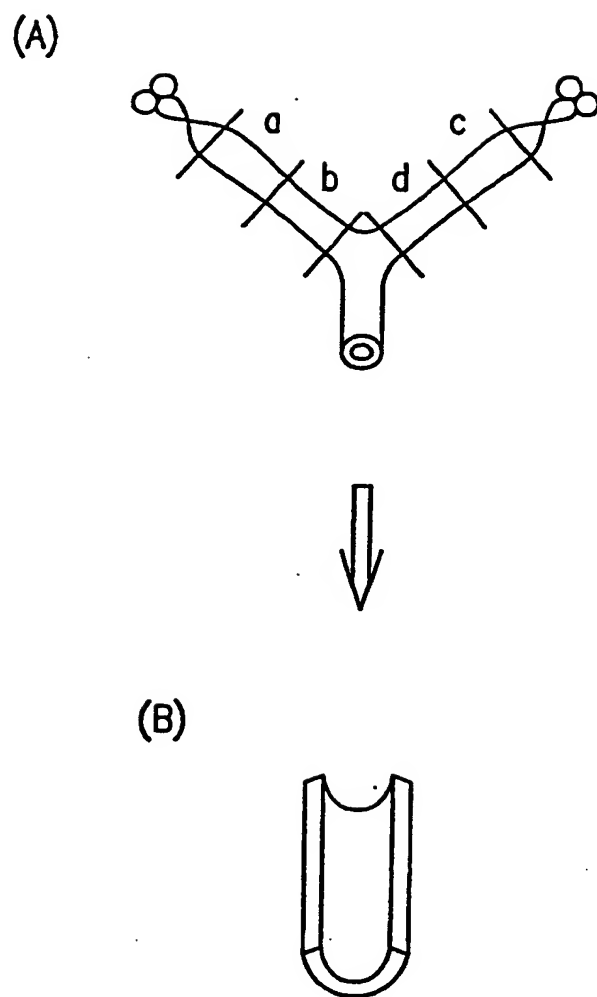




図 2

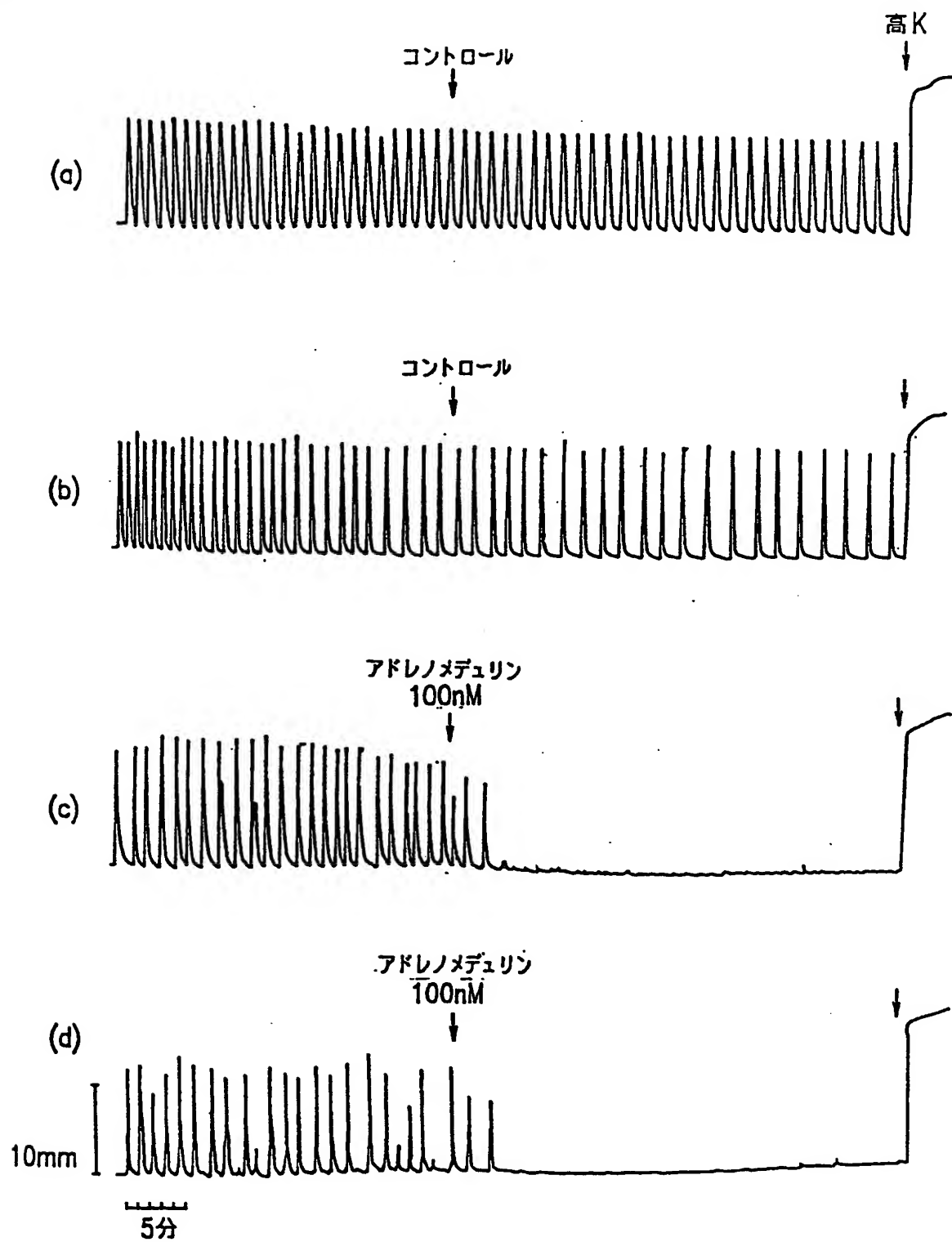






図 3

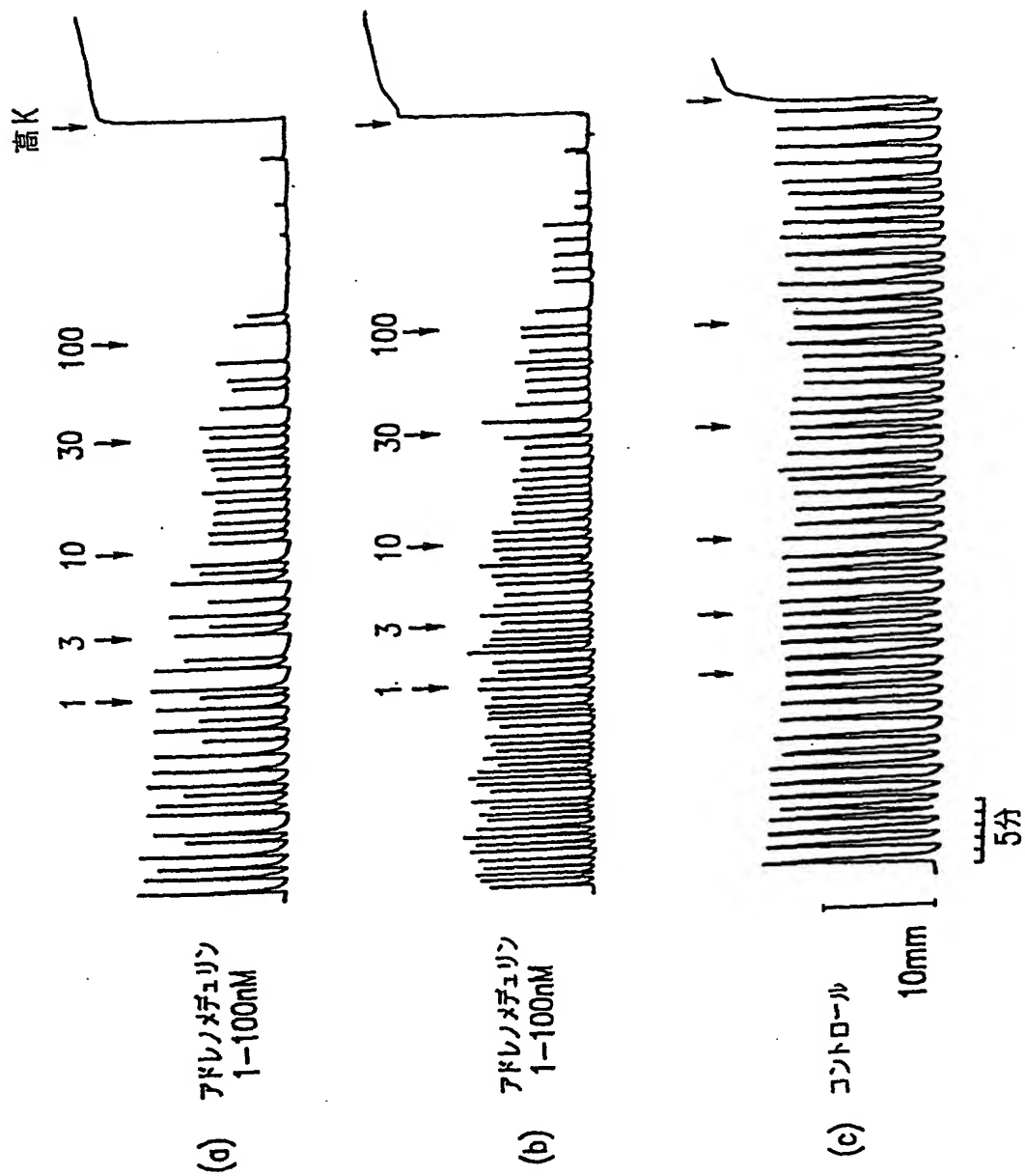




図 4

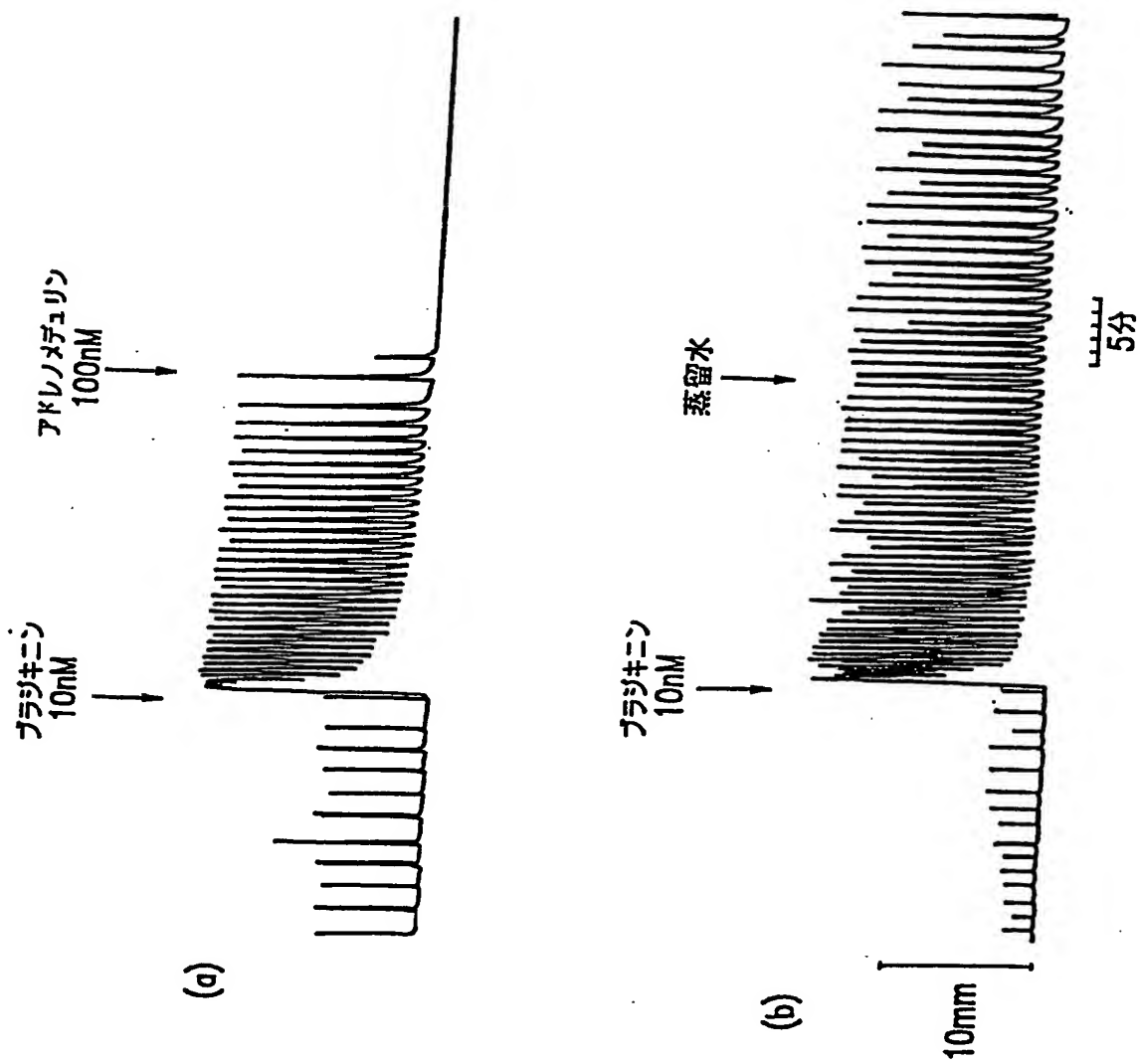




図 5

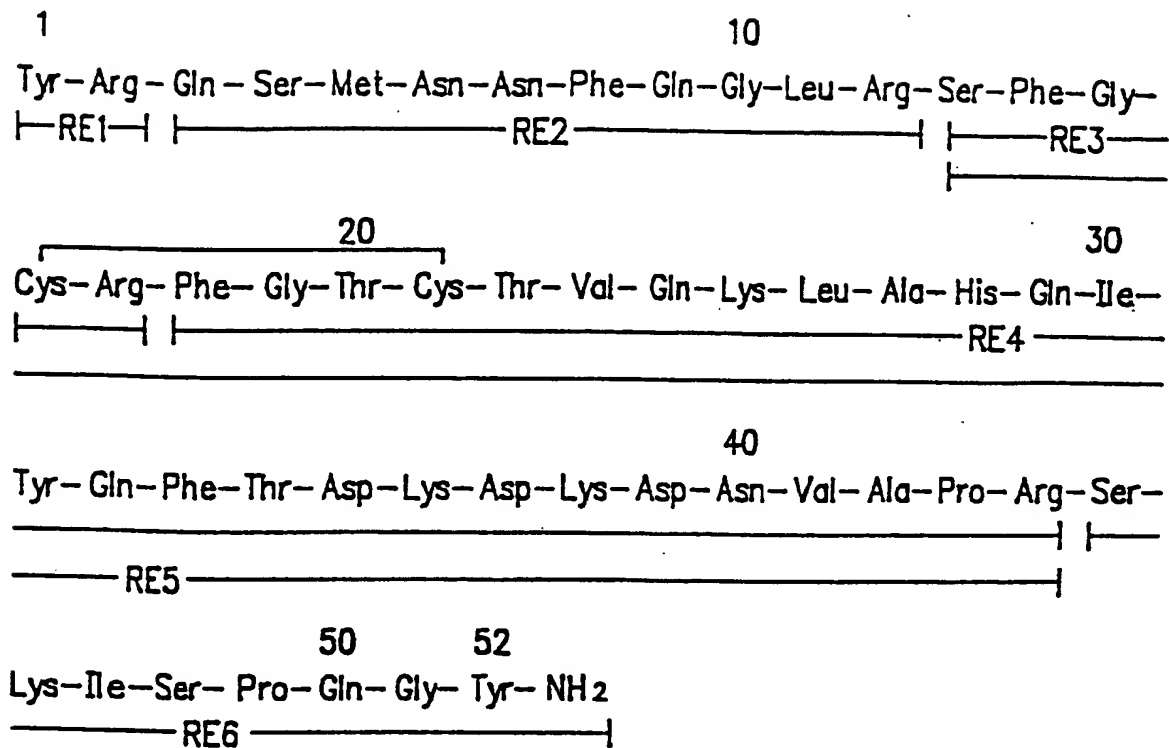




図 6

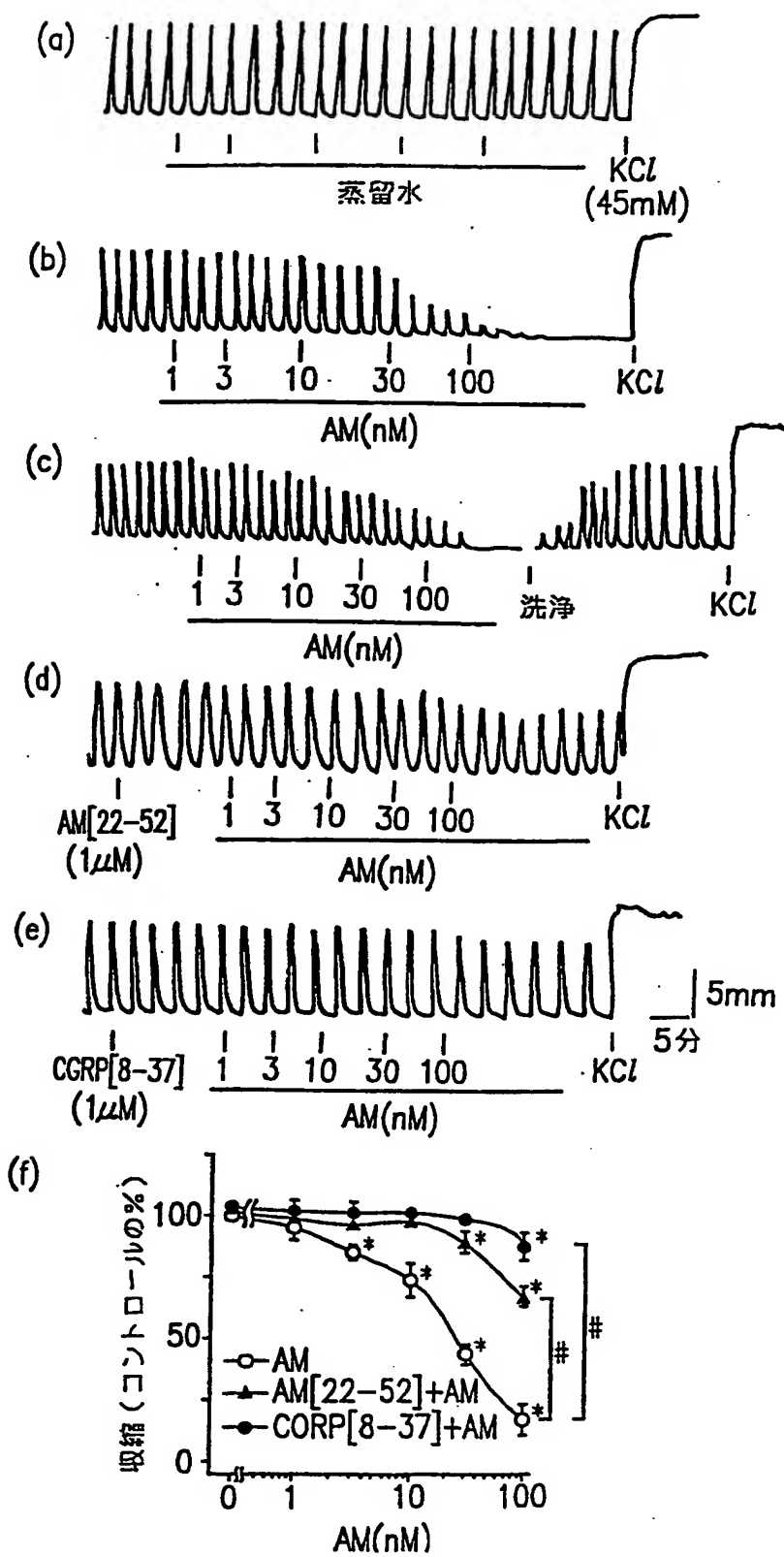
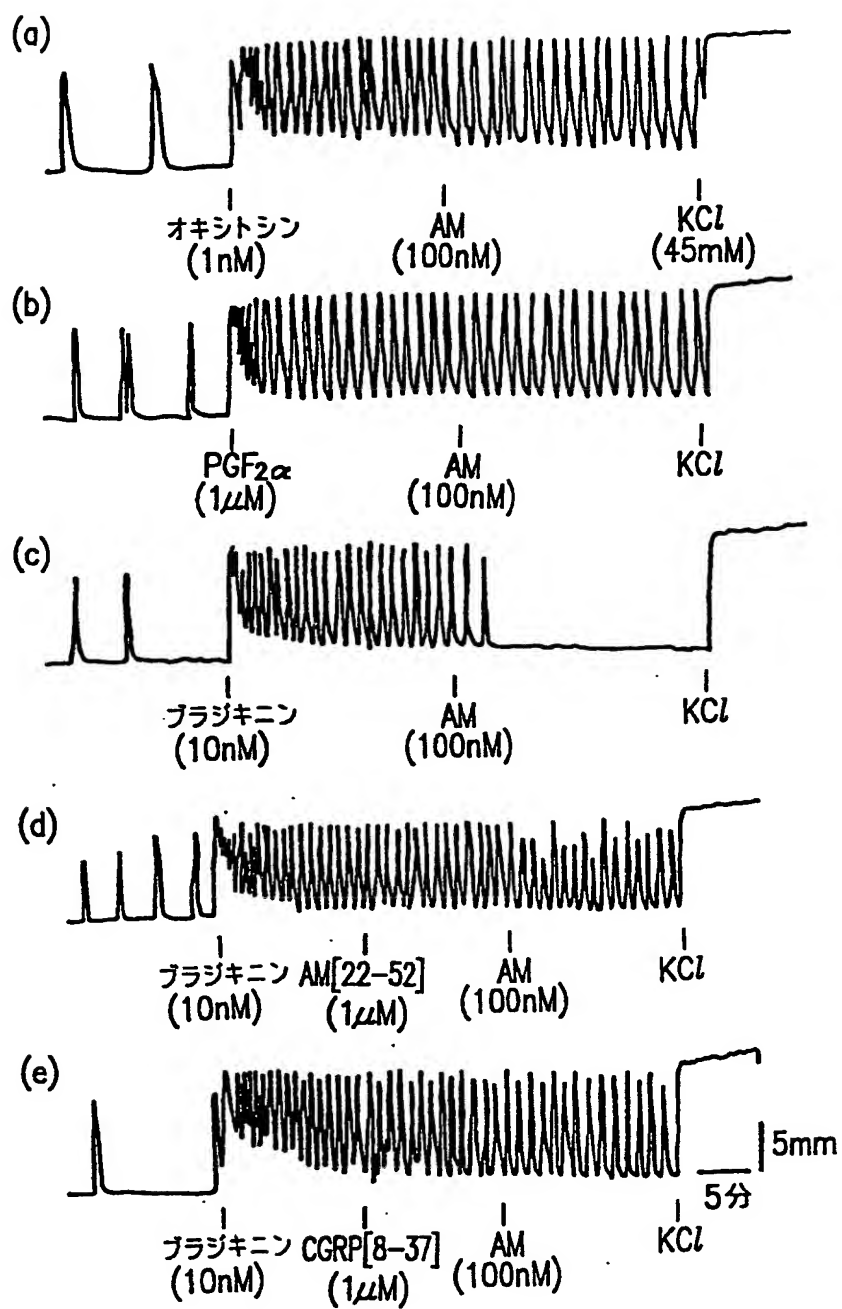






図 7





## SEQUENCE LISTING

<110> Shionogi & Co., Ltd

5      <120> Drugs for contraction suppression of myometrium

<130> S0043PCT

<150> JP P1999-177548

10

<151> 1999-06-23

<150> JP P2000-79171

15      <151> 1999-03-21

<160> 6

20      <170> PatentIn Ver. 2.0

<210> 1

<211> 1457

<212> DNA

25      <213> Homo sapiens



<220>

<221> CDS

<222> (165).. (719)

5 <220>

<221> mat peptide

<222> (447).. (602)

<400> 1

10 ggcacgagct ggatagaaca gctcaagcct tgccacttcg ggctttctac tgcagctggg 60

cttggacttc ggagttttgc cattgccagt gggacgtctg agactttctc ctccaagtac 120

ttggcagatc actctcttag cagggctcgc gcttcgcagc cggg atg aag ctg gtt 176

15 Met Lys Leu Val

tcc gtc gcc ctg atg tac ctg ggt tcg ctc gcc ttc cta ggc gct gac 224

Ser Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe Leu Gly Ala Asp

-90 -85 -80 -75

20 acc gct cgg ttg gat gtc gcg tcg gag ttt cga aag aag tgg aat aag 272

Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys Lys Trp Asn Lys

-70 -65 -60

25 tgg gct ctg agt cgt ggg aag agg gaa ctg cgg atg tcc agc agc tac 320

Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met Ser Ser Ser Tyr



	-55	-50	-45	
	ccc acc ggg ctc gct gac gtg aag gcc ggg cct gcc cag acc ctt att 368			
	Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala Gln Thr Leu Ile			
5	-40	-35	-30	
	cgg ccc cag gac atg aag ggt gcc tct cga agc ccc gaa gac agc agt 416			
	Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro Glu Asp Ser Ser			
	-25	-20	-15	
10	ccg gat gcc gcc cgc atc cga gtc aag cgc tac cgc cag agc atg aac 464			
	Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln Ser Met Asn			
	-10	-5	-1 1	5
15	aac ttc cag ggc ctc cgg agc ttt ggc tgc cgc ttc ggg acg tgc acg 512			
	Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys Thr			
	10	15	20	
	gtg cag aag ctg gca cac cag atc tac cag ttc aca gat aag gac aag 560			
20	Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp Lys			
	25	30	35	
	gac aac gtc gcc ccc agg agc aag atc agc ccc cag ggc tac ggc cgc 608			
	Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly Arg			
25	40	45	50	





cgg cgc cgg cgc tcc ctg ccc gag gcc ggc ccg ggt cgg act ctg gtg 656  
 Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly Arg Thr Leu Val  
 55 60 65 70

5 tct tct aag cca caa gca cac ggg gct cca gcc ccc ccg agt gga agt 704  
 Ser Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro Pro Ser Gly Ser  
 75 80 85

10 gct ccc cac ttt ctt taggatttag gcgcccatgg tacaaggaat agtcgcgcaa 759  
 Ala Pro His Phe Leu  
 90

gcatcccgct ggtgcctccc gggacgaagg acttcccagag cgggtgtgggg accgggctct 819

15 gacagccctg cggagaccct gagtccggga ggcaccgtcc ggccggcgagc tctggctttg 879

caagggcccc tccttctggg ggcttcgctt ccttagcctt gctcagggtgc aagtgcccc 939

20 gggggcgggg tgcagaagaa tccgagtgtt tgccaggctt aaggagagga gaaactgaga 999

aatgaatgct gagacccccg gagcaggggt ctgagccaca gccgtgctcg ccacaaaact 1059

gatttctcac ggctgtcac cccaccaggg cgcaagcctc actattactt gaactttcca 1119

25 aaacctaaag aggaaaagtg caatgcgtgt tgiacataca gaggttaacta tcaatatit 1179



agtttgttgc tgtcaagatt ttttttgttaa cttcaaatat agagatatatt ttgtacgtta 1239

tatatgttat taagggcatt ttaaaagcaa ttatatgttc ctccctatt ttaagacgtg 1299

5 aaigtctcag cgagggtgtaa agttgttcgc cgcgtggaat gtgagtgtgt ttgtgtgcat 1359

gaaagagaaa gactgattac ctccgtgtgtg gaagaaggaa acaccgagtc tctgtataat 1419

ctatttacat aaaatgggtg atatgcgaac agcaaacc 1457

10

<210> 2

<211> 185

<212> PRT

15 <213> Homo sapiens

<400> 2

Met Lys Leu Val Ser Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe

-90

-85

-80

20

Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ser Glu Phe Arg Lys

-75

-70

-65

Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Met

25

-60

-55

-50



Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Ala Asp Val Lys Ala Gly Pro Ala

-45

-40

-35

Gln Thr Leu Ile Arg Pro Gln Asp Met Lys Gly Ala Ser Arg Ser Pro

5

-30

-25

-20

-15

Glu Asp Ser Ser Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg

-10

-5

-1 1

10

Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe

5

10

15

Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr

20

25

30

15

Asp Lys Asp Lys Asp Asn Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln

35

40

45

50

Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Gly Pro Gly

20

55

60

65

Arg Thr Leu Val Ser Ser Lys Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Pro

70

75

80

25

Pro Ser Gly Ser Ala Pro His Phe Leu

85

90



<210> 3

<211> 1493

5 <212> DNA

<213> Sus scrofa

<220>

<221> CDS

10 <222> (148)..(711)

<220>

<221> mat peptide

<222> (430)..(585)

15

<400> 3

gcggaacagc tcgagccttg ccacctctag ttctttacca cagcttggac gtcgggggttt 60

tgccactgcc agagggacgt ctcagacttc atcttcccaa atcttggcag atcaccacct 120

20

tagcagggtc tgcacatctc agccggg atg aag ctg gtt ccc gta gcc ctc atg 174

Met Lys Leu Val Pro Val Ala Leu Met

-90

25 tac ctg ggc tcg ctc gcc ttc ctg ggc gct gac aca gct cgg ctc gac 222

Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp





	-85	-80	-75	-70	
	gtg gcg gca gag ttc cga aag aaa tgg aat aag tgg gct cta agt cgt				270
	Val Ala Ala Glu Phe Arg Lys Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg				
5		-65	-60	-55	
	gga aaa aga gaa ctt cgg ctg tcc agc agc tac ccc acc ggg atc gcc				318
	Gly Lys Arg Glu Leu Arg Leu Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Ile Ala				
		-50	-45	-40	
10					
	gac ttg aag gcc ggg cct gcc cag act gtc att cgg ccc cag gat gtg				366
	Asp Leu Lys Ala Gly Pro Ala Gln Thr Val Ile Arg Pro Gln Asp Val				
		-35	-30	-25	
15					
	aag ggc tcc tct cgc agc ccc cag gcc agc att ccg gat gca gcc cgc				414
	Lys Gly Ser Ser Arg Ser Pro Gln Ala Ser Ile Pro Asp Ala Ala Arg				
		-20	-15	-10	
	atc cga gtc aag cgc tac cgc cag agt atg aac aac ttc cag ggc ctg				462
20	Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu				
		-5	-1	1	5
					10
	cgg agc ttc ggc tgt cgc ttt ggg acg tgc acc gtg cag aag ctg gcg				510
	Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala				
25		15	20	25	



cac cag atc tac cag ttc acg gac aaa gac aag gac ggc gtc gcc ccc 558  
 His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Gly Val Ala Pro  
 30 35 40

5 cgg agc aag atc agc ccc cag ggc tac ggc cgc cgg cgc cga cgc tct 606  
 Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser  
 45 50 55

10 ctg ccc gaa gcc agc ctg ggc cgg act ctg agg tcc cag gag cca cag 654  
 Leu Pro Glu Ala Ser Leu Gly Arg Thr Leu Arg Ser Gln Glu Pro Gln  
 60 65 70 75

15 gcg cac ggg gcc ccg gcc tcc ccg gcg cat caa gtg ctc gcc act ctc 702  
 Ala His Gly Ala Pro Ala Ser Pro Ala His Gln Val Leu Ala Thr Leu  
 80 85 90

ttt agg att taggcgccta ctgtggcagc agcgaacagt cgcgcattgca 751  
 Phe Arg Ile

20 tcatgccggc gcttcctggg gcggggggct tcccggagcc gagccctca gcggctgggg 811  
 cccgggcaga gacagcattg agagaccgag agtccgggag gcacagacca gcggcgagcc 871  
 ctgcattttc aggaaccctt cctgcttggg ggcagtgttc tcttcggctt aatccagccc 931  
 25 gggtccccgg gtgggggtgg aggggtgcaga ggaatccaaa ggagtgtcat ctgccaggct 991



cacggagagg agaaactgcg aagtaaagtc ttagaccccc aggggcaagg gtcigagcca 1051

ctgccgtgcc gccacaaaac tgatttctga aggggaataa cccaacagg gcgcaagcct 1111

5

cactattact tgaactttcc aaaacctaga gaggaaaagt gcaatgtatg ttgtatataa 1171

agaggtaaact atcaatatit aagtttgttg ctgtcaagat tttttttgt aacttcaa 1231

10

atagagatat tttgtacgt tatatatgtg attaaggcca ttttaaaaca attgtattgt 1291

tcccccccc tctatittaa tatgtgaatg tctcagcgag gtgtaacatt gtttgctgcg 1351

cgaaatgtga gagtgtgtgt gtgtgtgtgc gigaagaga gtciggtatgc ctcttgggga 1411

15

agaagaaaac accatatctg tataatctat ttacataaaa tgggtgatat gcgaagtagc 1471

aaaccaataa actgtctcaa tg 1493

20

<210> 4

<211> 188

<212> PRT

<213> Sus scrofa

25

<400> 4



Met Lys Leu Val Pro Val Ala Leu Met Tyr Leu Gly Ser Leu Ala Phe

-90

-85

-80

Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Val Ala Ala Glu Phe Arg Lys

5

-75

-70

-65

Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Arg Leu

-60

-55

-50

10

Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Ile Ala Asp Leu Lys Ala Gly Pro Ala

-45

-40

-35

Gln Thr Val Ile Arg Pro Gln Asp Val Lys Gly Ser Ser Arg Ser Pro

-30

-25

-20

-15

15

Gln Ala Ser Ile Pro Asp Ala Ala Arg Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg

-10

-5

-1 1

Gln Ser Met Asn Asn Phe Gln Gly Leu Arg Ser Phe Gly Cys Arg Phe

20

5

10

15

Gly Thr Cys Thr Val Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr

20

25

30

25

Asp Lys Asp Lys Asp Gly Val Ala Pro Arg Ser Lys Ile Ser Pro Gln

35

40

45

50





Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Ala Ser Leu Gly

55

60

65

5 Arg Thr Leu Arg Ser Gln Glu Pro Gln Ala His Gly Ala Pro Ala Ser

70

75

80

Pro Ala His Gln Val Leu Ala Thr Leu Phe Arg Ile

85

90

10

<210> 5

<211> 1376

<212> DNA

15 <213> Rattus norvegicus .

<220>

<221> CDS

<222> (154).. (708)

20

<220>

<221> mat peptide

<222> (433).. (582)

25 <400> 5

tccagccitt accgciccg gtttcicggc ttctcatcgc agtcagtcctt ggactttgcg 60



ggttttgccg ctgtcagaag gacgtctcgg actttctgct tcaagtgtt gacaactcac 120

cctttcagca gggatcggga gcatcgctac aga atg aag ctg gtt tcc atc gcc 174

5

Met Lys Leu Val Ser Ile Ala

-90

ctg atg tta ttg ggt tcg ctc gcc gtt ctc ggc gcg gac acc gca cgg 222

Leu Met Leu Leu Gly Ser Leu Ala Val Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg

10

-85

-80

-75

ctc gac act tcc tcg cag ttc cga aag aag tgg aat aag tgg gcg cta 270

Leu Asp Thr Ser Ser Gln Phe Arg Lys Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu

-70

-65

-60

-55

15

agt cgt ggg aag agg gaa cta caa gcg tcc agc agc tac cct acg ggg 318

Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Gln Ala Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly

-50

-45

-40

20

ctc gtt gat gag aag aca gtc ccg acc cag act ctt ggg ctc cag gac 366

Leu Val Asp Glu Lys Thr Val Pro Thr Gln Thr Leu Gly Leu Gln Asp

-35

-30

-25

aag cag agc acg tct agc acc cca caa gcc agc act cag agc aca gcc 414

25

Lys Gln Ser Thr Ser Ser Thr Pro Gln Ala Ser Thr Gln Ser Thr Ala

-20

-15

-10



cac att cga gtc aaa cgc tac cgc cag agc atg aac cag ggg tcc cgc 462  
 His Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln Ser Met Asn Gln Gly Ser Arg  
 -5 -1 1 5 10  
 5  
 agc act gga tgc cgc ttt ggg acc tgc aca atg cag aaa ctg gct cac 510  
 Ser Thr Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys Thr Met Gln Lys Leu Ala His  
 15 20 25  
 10  
 cag atc tac cag ttt aca gac aaa gac aag gac ggc atg gcc ccc aga 558  
 Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp Lys Asp Gly Met Ala Pro Arg  
 30 35 40  
 aac aag atc agc cct caa ggc tat ggc cgc cgg cgc cgg cgt tcc ctg 606  
 15 Asn Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu  
 45 50 55  
 cca gag gtc ctc cga gcc cgg act gtg gag tcc tcc cag gag cag aca 654  
 Pro Glu Val Leu Arg Ala Arg Thr Val Glu Ser Ser Gln Glu Gln Thr  
 20 60 65 70  
 cac tca gct cca gcc tcc ccg gcg cac caa gac atc tcc aga gtc tct 702  
 His Ser Ala Pro Ala Ser Pro Ala His Gln Asp Ile Ser Arg Val Ser  
 75 80 85 90  
 25  
 agg tta taggtgcggg tggcagcatt gaacagtcgg gcgagtatcc cattggcgcc 758



Arg Leu

tgcggaatca gagagcttcg caccctgagc ggactgagac aatcttgacg agatctgcct 818

5 ggctgcccci aggggaggca gaggaaccca agatcaagcc aggctcacgt cagaaaccga 878

gaattacagg ctgatactct ciccgggcag gggctcagac cactgccttg cccgcicata 938

aactggtttt ctcacggggc atacggctca ttacttactt gaactttcca aaacctagcg 998

10

aggaaaagtg caatgcttgt tatacagcca aaggtaacta tcatatttaa gtttgttgat 1058

gtcaagaggt tttttttttt gtaacttcaa atatatagaa atattttgtt acgittatata 1118

15 ttgtattaag ggcattttta agcgattata ttgtcaccit cccctatttt aagaagtga 1178

tgctcagca aggtgtaagg ttgtttgggt ccgtgtgtgt gtgtgtgtgt gtgtgtgtgt 1238

gtgtgtgtgt gtgtgtgttaa ggtggagagc gcctgattac cgccgttgga tgaagaaaaa 1298

20

acattgtgtc ttctataatc tatttacata aaatatgtga tctgggaaaa agcaaaccaa 1358

taaactgtct caatgctg 1376

25

&lt;210&gt; 6





&lt;211&gt; 185

&lt;212&gt; PRT

&lt;213&gt; Rattus norvegicus

5 &lt;400&gt; 6

Met Lys Leu Val Ser Ile Ala Leu Met Leu Leu Gly Ser Leu Ala Val

-90

-85

-80

Leu Gly Ala Asp Thr Ala Arg Leu Asp Thr Ser Ser Gln Phe Arg Lys

10

-75

-70

-65

Lys Trp Asn Lys Trp Ala Leu Ser Arg Gly Lys Arg Glu Leu Gln Ala

-60

-55

-50

15

Ser Ser Ser Tyr Pro Thr Gly Leu Val Asp Glu Lys Thr Val Pro Thr

-45

-40

-35

-30

Gln Thr Leu Gly Leu Gln Asp Lys Gln Ser Thr Ser Ser Thr Pro Gln

-25

-20

-15

20

Ala Ser Thr Gln Ser Thr Ala His Ile Arg Val Lys Arg Tyr Arg Gln

-10

-5

-1 1

Ser Met Asn Gln Gly Ser Arg Ser Thr Gly Cys Arg Phe Gly Thr Cys

25

5

10

15



Thr Met Gln Lys Leu Ala His Gln Ile Tyr Gln Phe Thr Asp Lys Asp  
20 25 30 35

Lys Asp Gly Met Ala Pro Arg Asn Lys Ile Ser Pro Gln Gly Tyr Gly  
5 40 45 50

Arg Arg Arg Arg Arg Ser Leu Pro Glu Val Leu Arg Ala Arg Thr Val  
55 60 65

10 Glu Ser Ser Gln Glu Gln Thr His Ser Ala Pro Ala Ser Pro Ala His  
70 75 80

Gln Asp Ile Ser Arg Val Ser Arg Leu  
85 90

15



開示の日(発行日) : 2000年3月1日(01. 03. 00)  
開示の種類 : 文献  
Journal  
文献の名称 : 日本薬理学誌第82巻付録1, 2000  
The Japanese Journal of  
Pharmacology, Volume82,  
Supplement I 2000



# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04167

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)  
MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), CA (STN), CAPLUS (STN)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	UPTON, Paul D. et al., "Expression of Adrenomedullin (ADM) and Its Binding Sites in the Rat Uterus : Increased Number of Binding Sites and ADM Messenger Ribonucleic Acid in 20-Day Pregnant Rats Compared with Nonpregnant Rats", Endocrinology (1997), Vol.138, No.6, pp.2508-2514	1-15, 17
A	US, 5639855, A (Shionogi & Co., LTD.), 17 June, 1997 (17.06.97) & JP, 07-196693, A & EP, 622458, A2 & AU, 9460648, A & CA, 2122112, A	1-15, 17



Further documents are listed in the continuation of Box C.



See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:  
 "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance  
 "E" earlier document but published on or after the international filing date  
 "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)  
 "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means  
 "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention  
 "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone  
 "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art  
 "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
03 October, 2000 (03.10.00)

Date of mailing of the international search report  
17 October, 2000 (17.10.00)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP00/04167

## Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)

This international search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:

1. ☒ Claims Nos.: 16  
because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:  
Claim 16 pertains to methods for treatment of the human body by surgery or therapy and thus relates to a subject matter which this International Searching Authority is not required to search.
2. ☐ Claims Nos.:  
because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3. ☐ Claims Nos.:  
because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).

## Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)

This International Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:

1. ☐ As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2. ☐ As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3. ☐ As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4. ☐ No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:

Remark on Protest ☐ The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  
☐ No protest accompanied the payment of additional search fees.



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), CA (STN), CAPLUS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	UPTON, Paul D. et al., "Expression of Adrenomedullin (ADM) and Its Binding Sites in the Rat Uterus: Increased Number of Binding Sites and ADM Messenger Ribonucleic Acid in 20-Day Pregnant Rats Compared with Nonpregnant Rats", Endocrinology (1997), Vol. 138, No. 6, p. 2508-2514	1-15, 17
A	US, 5639855, A (Shionogi & Co., LTD.) 17.6月.1997(17.06.97) &JP, 07-196693, A &EP, 622458, A2 &AU, 9460648, A &CA, 2122112, A	1-15, 17

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの  
「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの  
「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの  
「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03.10.00

国際調査報告の発送日

17.10.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

榎本 佳子

印

4P

9638

電話番号 03-3581-1101 内線 3492



PCT

## 国際調査報告

(法8条、法施行規則第40、41条)  
[PCT18条、PCT規則43、44]

出願人又は代理人 の書類記号 SO043PCT	今後の手続きについては、国際調査報告の送付通知様式(PCT/ISA/220)及び下記5を参照すること。	
国際出願番号 PCT/JP00/04167	国際出願日 (日.月.年) 23.06.00	優先日 (日.月.年) 23.06.99
出願人(氏名又は名称) 塩野義製薬株式会社		

国際調査機関が作成したこの国際調査報告を法施行規則第41条(PCT18条)の規定に従い出願人に送付する。  
この写しは国際事務局にも送付される。

この国際調査報告は、全部で 3 ページである。

☐ この調査報告に引用された先行技術文献の写しも添付されている。

## 1. 国際調査報告の基礎

- a. 言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願がされたものに基づき国際調査を行った。  
☐ この国際調査機関に提出された国際出願の翻訳文に基づき国際調査を行った。
- b. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際調査を行った。  
☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際調査機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった。  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

2. ☒ 請求の範囲の一部の調査ができない(第I欄参照)。

3. ☐ 発明の単一性が欠如している(第II欄参照)。

4. 発明の名称は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 次に示すように国際調査機関が作成した。

5. 要約は ☒ 出願人が提出したものを承認する。  
☐ 第III欄に示されているように、法施行規則第47条(PCT規則38.2(b))の規定により国際調査機関が作成した。出願人は、この国際調査報告の発送の日から1カ月以内にこの国際調査機関に意見を提出することができる。

6. 要約書とともに公表される図は、  
第 \_\_\_\_\_ 図とする。 ☐ 出願人が示したとおりである。 ☒ なし  
☐ 出願人は図を示さなかった。  
☐ 本図は発明の特徴を一層よく表している。



## 第 I 欄 請求の範囲の一部の調査ができないときの意見 (第 1 ページの 2 の続き)

法第 8 条第 3 項 (PCT 17 条 (2) (a)) の規定により、この国際調査報告は次の理由により請求の範囲の一部について作成しなかった。

1. ☒ 請求の範囲 16 は、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。つまり、  
請求の範囲 16 は、手術又は治療による人体の処置方法であり、この国際調査機関が調査をすることを要しない対象に係るものである。
2. ☐ 請求の範囲                      は、有意義な国際調査をすることができる程度まで所定の要件を満たしていない国際出願の部分に係るものである。つまり、
3. ☐ 請求の範囲                      は、従属請求の範囲であって PCT 規則 6.4(a) の第 2 文及び第 3 文の規定に従って記載されていない。

## 第 II 欄 発明の単一性が欠如しているときの意見 (第 1 ページの 3 の続き)

次に述べるようにこの国際出願に二以上の発明があるとこの国際調査機関は認めた。

1. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料をすべて期間内に納付したので、この国際調査報告は、すべての調査可能な請求の範囲について作成した。
2. ☐ 追加調査手数料を要求するまでもなく、すべての調査可能な請求の範囲について調査することができたので、追加調査手数料の納付を求めなかった。
3. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を一部のみしか期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、手数料の納付のあった次の請求の範囲のみについて作成した。
4. ☐ 出願人が必要な追加調査手数料を期間内に納付しなかったので、この国際調査報告は、請求の範囲の最初に記載されている発明に係る次の請求の範囲について作成した。

## 追加調査手数料の異議の申立てに関する注意

- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがあった。
- ☐ 追加調査手数料の納付と共に出願人から異議申立てがなかった。



## A. 発明の属する分野の分類 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

## B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料 (国際特許分類 (IPC))

Int. Cl<sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース (データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE (STN), BIOSIS (STN), CA (STN), CAPLUS (STN)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
A	UPTON, Paul D. et al., "Expression of Adrenomedullin (ADM) and Its Binding Sites in the Rat Uterus : Increased Number of Binding Sites and ADM Messenger Ribonucleic Acid in 20-Day Pregnant Rats Compared with Nonpregnant Rats", Endocrinology (1997), Vol. 138, No. 6, p. 2508-2514	1-15, 17
A	US, 5639855, A (Shionogi & Co., LTD.) 17.6月.1997(17.06.97) &JP, 07-196693, A &EP, 622458, A2 &AU, 9460648, A &CA, 2122112, A	1-15, 17

☐ C欄の続きにも文献が列挙されている。☐ パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの  
「E」 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの  
「L」 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献 (理由を付す)  
「O」 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献  
「P」 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

の日の後に公表された文献

「T」 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの

「X」 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの

「Y」 特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの

「&amp;」 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

03.10.00

国際調査報告の発送日

17.10.00

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官 (権限のある職員)

榎本 佳予子

4P

9638

電話番号 03-3581-1101 内線 3492





特 許 協 力 条 約

PCT

国際予備審査報告

(法第12条、法施行規則第56条)  
(PCT36条及びPCT規則70)

REC'D 04 MAY 2001

WIPO

PCT

出願人又は代理人 の書類記号	SO043PCT			今後の手続きについては、国際予備審査報告の送付通知(様式PCT/ IPEA/416)を参照すること。
国際出願番号 PCT/JP00/04167	国際出願日 (日.月.年)	23.06.00	優先日 (日.月.年)	23.06.99
国際特許分類(IPC)	Int. Cl <sup>7</sup> A61K38/17, A61P15/06, A61P43/00			
出願人(氏名又は名称) 塩野義製薬株式会社				

- 国際予備審査機関が作成したこの国際予備審査報告を法施行規則第57条(PCT36条)の規定に従い送付する。
- この国際予備審査報告は、この表紙を含めて全部で 4 ページからなる。  
☐ この国際予備審査報告には、附属書類、つまり補正されて、この報告の基礎とされた及び/又はこの国際予備審査機関に対してした訂正を含む明細書、請求の範囲及び/又は図面も添付されている。  
(PCT規則70.16及びPCT実施細則第607号参照)  
この附属書類は、全部で                      ページである。
- この国際予備審査報告は、次の内容を含む。  
I ☒ 国際予備審査報告の基礎  
II ☐ 優先権  
III ☒ 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての国際予備審査報告の不作成  
IV ☐ 発明の単一性の欠如  
V ☒ PCT35条(2)に規定する新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての見解、それを裏付けるための文献及び説明  
VI ☐ ある種の引用文献  
VII ☐ 国際出願の不備  
VIII ☐ 国際出願に対する意見

国際予備審査の請求書を受理した日 27.12.00	国際予備審査報告を作成した日 18.04.01		
名称及びあて先 日本国特許庁(IPEA/JP) 郵便番号100-8915 東京都千代田区霞が関三丁目4番3号	特許庁審査官(権限のある職員) 榎本 佳子	4P	9638
電話番号 03-3581-1101		内線 3492	

様式PCT/IPEA/409(表紙)(1998年7月)



## I. 国際予備審査報告の基礎

1. この国際予備審査報告は下記の出願書類に基づいて作成された。(法第6条(PCT14条)の規定に基づく命令に  
応答するために提出された差し替え用紙は、この報告書において「出願時」とし、本報告書には添付しない。  
PCT規則70.16, 70.17)

☒ 出願時の国際出願書類

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 出願時に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 PCT19条の規定に基づき補正されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 出願時に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
図面 第 \_\_\_\_\_ ページ/図、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの
- ☐ 明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 出願時に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 国際予備審査の請求書と共に提出されたもの  
明細書の配列表の部分 第 \_\_\_\_\_ ページ、 \_\_\_\_\_ 付の書簡と共に提出されたもの

2. 上記の出願書類の言語は、下記に示す場合を除くほか、この国際出願の言語である。

上記の書類は、下記の言語である \_\_\_\_\_ 語である。

- ☐ 国際調査のために提出されたPCT規則23.1(b)にいう翻訳文の言語  
☐ PCT規則48.3(b)にいう国際公開の言語  
☐ 国際予備審査のために提出されたPCT規則55.2または55.3にいう翻訳文の言語

3. この国際出願は、ヌクレオチド又はアミノ酸配列を含んでおり、次の配列表に基づき国際予備審査報告を行った。

- ☐ この国際出願に含まれる書面による配列表  
☐ この国際出願と共に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出された書面による配列表  
☐ 出願後に、この国際予備審査(または調査)機関に提出されたフレキシブルディスクによる配列表  
☐ 出願後に提出した書面による配列表が出願時における国際出願の開示の範囲を超える事項を含まない旨の陳述書の提出があった  
☒ 書面による配列表に記載した配列とフレキシブルディスクによる配列表に記載した配列が同一である旨の陳述書の提出があった。

4. 補正により、下記の書類が削除された。

- ☐ 明細書 第 \_\_\_\_\_ ページ  
☐ 請求の範囲 第 \_\_\_\_\_ 項  
☐ 図面 図面の第 \_\_\_\_\_ ページ/図

5. ☐ この国際予備審査報告は、補充欄に示したように、補正が出願時における開示の範囲を越えてされたものと認められるので、その補正がされなかったものとして作成した。(PCT規則70.2(c) この補正を含む差し替え用紙は上記1.における判断の際に考慮しなければならず、本報告に添付する。)



1. 次に、当該請求の範囲に記載されている発明の新規性、進歩性又は産業上の利用可能性につき、次の理由により審査しない。

- ☒ 請求の範囲 16

[x] この国際出願又は請求の範囲 16 は、国際予備審査をすることを要しない  
次の事項を内容としている（具体的に記載すること）。

☐ 明細書、請求の範囲若しくは図面（次に示す部分）又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ の記載が、不明確であるため、見解を示すことができない（具体的に記載すること）。

- ☐ 全部の請求の範囲又は請求の範囲 \_\_\_\_\_ が、明細書による十分な裏付けを欠くため、見解を示すことができない。

- ☒ 請求の範囲 16 について、国際調査報告が作成されていない。

2. ヌクレオチド又はアミノ酸の配列表が実施細則の附属書C（塩基配列又はアミノ酸配列を含む明細書等の作成のためのガイドライン）に定める基準を満たしていないので、有効な国際予備審査をすることができない。

- ☐ フレキシブルディスクによる配列表が提出されていない又は所定の基準を満たしていない。



## V. 新規性、進歩性又は産業上の利用可能性についての法第12条(PCT35条(2))に定める見解、それを裏付ける文献及び説明

## 1. 見解

新規性(N)

請求の範囲 1-15, 17 有  
請求の範囲 無

進歩性(IS)

請求の範囲 1-15, 17 有  
請求の範囲 無

産業上の利用可能性(IA)

請求の範囲 1-15, 17 有  
請求の範囲 無

## 2. 文献及び説明(PCT規則70.7)

## (文献)

1. Endocrinology (1997), Vol. 138, No. 6, p. 2508-2514
2. US, 5639855, A (Shionogi & Co., LTD.) 17.6月.1997(17.06.97)

## (説明)

・請求の範囲1-15及び17について

請求の範囲1-15及び17に係る発明は、国際調査報告で引用された何れの文献にも開示されておらず、新規性を有する。

また、請求の範囲1-15及び17に記載された発明は、国際調査報告で引用された文献1及び2に対して進歩性を有する。

文献1には、アドレノメデュリンがガラニンによる子宮筋の収縮を抑制することが記載されているが、文献1及び2の何れにも、アドレノメデュリンが子宮筋自動収縮やブラジキニンによる子宮筋の収縮を抑制すること、並びに早産・流産の予防、及び月経困難症の治療等に有用であることは記載されておらず、しかもその点は、当該分野の技術常識から当業者といえども容易に想到し得ないものである。





Translation

PATENT COOPERATION TREATY

# PCT

## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference SO043PCT	<b>FOR FURTHER ACTION</b> See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)	
International application No. PCT/JP00/04167	International filing date (day/month/year) 23 June 2000 (23.06.00)	Priority date (day/month/year) 23 June 1999 (23.06.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC A61K 38/17, A61P 15/06, 43/00		
Applicant SHIONOGI & CO., LTD.		

<p>1. This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.</p> <p>2. This REPORT consists of a total of <u>4</u> sheets, including this cover sheet.</p> <p><input type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).</p> <p>These annexes consist of a total of _____ sheets.</p>
<p>3. This report contains indications relating to the following items:</p> <p>I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report</p> <p>II <input type="checkbox"/> Priority</p> <p>III <input checked="" type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability</p> <p>IV <input type="checkbox"/> Lack of unity of invention</p> <p>V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement</p> <p>VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited</p> <p>VII <input type="checkbox"/> Certain defects in the international application</p> <p>VIII <input type="checkbox"/> Certain observations on the international application</p>

Date of submission of the demand 27 December 2000 (27.12.00)	Date of completion of this report 18 April 2001 (18.04.2001)
Name and mailing address of the IPEA/JP	Authorized officer
Facsimile No.	Telephone No.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04167

## I. Basis of the report

1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☒ the international application as originally filed
- ☐ the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the claims:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☒ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages \_\_\_\_\_
- ☐ the claims, Nos. \_\_\_\_\_
- ☐ the drawings, sheets/fig \_\_\_\_\_

5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04167

## III. Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability

1. The questions whether the claimed invention appears to be novel, to involve an inventive step (to be non obvious), or to be industrially applicable have not been examined in respect of:

- ☐ the entire international application.
- ☒ claims Nos. 16

because:

- ☒ the said international application, or the said claims Nos. 16 relate to the following subject matter which does not require an international preliminary examination (*specify*):

The subject matter of Claim 16 relates to a method for treatment of the human or body by therapy or surgery, which does not require an international preliminary examination by the International Preliminary Examining Authority.

- ☐ the description, claims or drawings (*indicate particular elements below*) or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so unclear that no meaningful opinion could be formed (*specify*):

- ☐ the claims, or said claims Nos. \_\_\_\_\_ are so inadequately supported by the description that no meaningful opinion could be formed.

- ☒ no international search report has been established for said claims Nos. 16

2. A meaningful international preliminary examination cannot be carried out due to the failure of the nucleotide and/or amino acid sequence listing to comply with the standard provided for in Annex C of the Administrative Instructions:

- ☐ the written form has not been furnished or does not comply with the standard.
- ☐ the computer readable form has not been furnished or does not comply with the standard.



## INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/JP00/04167

**V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement**

## 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-15,17	YES
	Claims		NO
Inventive step (IS)	Claims	1-15,17	YES
	Claims		NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-15,17	YES
	Claims		NO

## 2. Citations and explanations

## (Documents)

1. Endocrinology, Vol. 138, No. 6, 1997, pp. 2508-2514
2. US, 5639855, A (Shionogi & Company, Ltd.) 17 June 1997 (17.06.97)

## (Commentary)

Claims 1-15 and 17

None of the documents cited in the international search report describes the inventions set forth in Claims 1-15 and 17, and therefore these inventions appear to be novel.

Furthermore, the inventions set forth in Claims 1-15 and 17 appear to involve an inventive step with respect to documents 1 and 2 cited in the international search report.

Document 1 states that adrenomedulin inhibits uterine contractions caused by galanin, but neither document 1 nor document 2 states that adrenomedulin inhibits spontaneous uterine contractions or uterine contractions caused by bradykinin, and that it is useful in the prevention of premature birth and abortion, and in the treatment of disorders such as difficult menstruation. Furthermore, persons skilled in the art cannot easily conceive of these matters based on common technical knowledge in this field.

